

論文の内容の要旨

論文題目 **Sequence analysis of small RNAs present in preimplantation
mouse embryos**

和訳 マウス初期胚に存在する小さな機能性 RNA の解析

指導教官 徳永 勝士 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成18年4月 進学

医学博士課程

国際保健学専攻

大西 悠亮

マウス初期胚の着床前過程は、一つの全能性を持つ受精卵が細胞分裂を繰り返す、受精後 3.5 日から 4 日までに、2 種類の異なる細胞系譜である内部細胞塊 (ICM) と栄養外胚葉 (TE) を持つ胚盤胞に発生する過程である。そしてこの過程では、母性ゲノムから胚ゲノムに由来する発生プログラムへの移行が始まり、遺伝子発現が大きく変化することが知られている。機能性 small RNA である miRNA、内在性 siRNA、piRNA は、相補的な配列をもつ転写産物に対し、RNA の切断や不安定化を誘導し、初期発生プログラムの移行や配偶子形成、胚形成において重要な役割を持つことが報告されている。しかしながら、哺乳類の初期胚に存在する機能性 small RNA を網羅的に解析した研究がないため、その過程における機能性 small RNA の働きについては、いまだあまり解明されていない。

本研究は、マウス初期胚に存在する small RNA の網羅的解析から、機能性を示す small RNA の同定と初期発生過程への影響を調べることを目的とし、少量の total RNA から small RNA library を作成する方法と、ハイスループットなシーケンス技術を用いて、マウス卵細胞、8-16 細胞、胚盤胞そして ICM に存在する機能性 small RNA について解析した。それぞれのサンプルを集め、small RNA library を作成後、マウスのゲノムに完全に一致する、およそ 860,000 クローンの small RNA について解析した結果、初期発生過程において機能性 small RNA は、量的・質的に大きく変化していることが明らかとなった。そして、母性 RNA 由来や発生過程で新規に産生される内在性 siRNA を見出し、それらが初期胚のレトロトランスポゾンや反復配列を持つ転写産物の抑制に働いていることを見

出した。また SINE 由来の内在性 siRNA が、マウス初期胚において Dicer 依存的に形成され、転写産物の調節に働く可能性を示唆した。さらに small RNA のクローニング頻度から、マウス初期胚における網羅的な miRNA の発現プロファイルが得られ、発生過程で miRNA の発現が大きく変化していることを見出した。そして、胚盤胞と ICM における miRNA の発現プロファイルを比較することで、ICM や TE に偏って存在する可能性のある miRNA を網羅的に見出すことができた。また miRNA の各ステージにおける発現プロファイルから、ICM と TE に偏る miRNA の発現調節の違いが、8-16 細胞期以降に生じることを見出し、そのために、異なる miRNA の発現パターンが、細胞系譜によって形成される可能性を示唆した。

以上の結果から、哺乳類の初期発生過程では、機能性を示す small RNA が劇的に変化しており、初期胚の転写産物の調節や細胞分化において重要な働きを持つことが考えられる。